

Copoly(urethane-g- γ -methyl-L-glutamate)의 혈액적합성

장 성 욱 · 성 용 길* · 조 종 수** · 김 계 용

한양대학교 공업화학과 · *동국대학교 화학과 · **전남대학교 고분자공학과

(1988년 10월 7일 접수)

Property and Blood-Compatibility of Copoly (urethane-g- γ -methyl-L-glutamate)

S. W. Jang, Y. K. Sung*, J. S. Cho**, and K. Y. Kim

Dept. of Industrial Chem., College of Eng., Hanyang Univ., Seoul 133-791, Korea

**Dept. of Chem., Dongguk Univ., Seoul 100-715, Korea*

***Dept. of Polymer Eng., Chonnam National Univ., Kwangju 500-757, Korea*

(Received October 7, 1988)

요 약 : Copoly(urethane-g- γ -methyl-L-glutamate)에 대한 혈액적합성을 검토하였다. 공중합체는 γ -methyl-L-glutamate N-carboxyanhydride(γ -MLG NCA)를 아민기가 치환된 폴리우레탄으로 개환중합하여 합성하였다. 아민치환폴리우레탄은 dimethylformamide (DMF)용매, 0°C에서 NaH와 p-bromoaniline으로 합성하였다. 폴리우레탄의 반응부분의 수는 NaH양으로 조절하였다. 그래프트쇄의 길이는 γ -MLG NCA양으로 조절하였다. 혈액적합성 평가는 microsphere column법, Lee-White법 그리고 film depositing법으로 하였다. 고분자표면에서의 혈소판의 침착기동은 주사전자현미경으로 조사하였고, 유출된 산유혈소판 수는 Coulter Counter로 측정하였다. 공중합체의 혈액적합성을 검토하기 위해 접촉각과 혈액응고시간을 측정하였다.

Abstract : Blood compatibility have been studied for copoly(urethane-g- γ -methyl-L-glutamate). Copolymer was synthesized by ring opening anionic polymerization of γ -MLG NCA with amine substituted polyurethane. Amine substituted polyurethane was made from sodium hydride and p-bromoaniline in dimethylformamide at 0°C. Reaction site of polyurethane was controlled by sodium hydride. In order to adjust the grafted chain length, the amount of γ -MLG NCA added was controlled. Microsphere column, Lee-White and film depositing methods were used for the evaluation of blood compatibility. The behavior of platelet on the polymer surfaces was investigated by scanning electron microscope and average number of platelet was measured by Coulter Counter. The contact angle and the clotting time of samples were investigated in order to examine the blood compatibility of copolymer.

서 론

보다 효율적인 의료용장비 개발과 생체내의 고장난 장기나 기능이 쇠퇴해진 장기대용품으로 사용하기 위한 생체적합성 재료에 대한 연구가 세계 여러연구기관에서 행해지고 있다. 이 중에서도 주목되는 것은 고분자소재를 이용한 의료용재료의 개발로서 항혈전성이 양호한 실리콘고무, 기계적 성질이 우수한 폴리우레탄, 생체 유사물질인 젤라틴등이 있다. 이 중에서도 우레탄과 실리콘의 단독 중합체 또는 이들의 공중합체가 항혈전성 재료로서 활발하게 연구개발되고 있다.^{1,2}

본 연구에서는 기계적성질이 우수하며 의료용재료로 널리 쓰이는 폴리우레탄에 생체 단백질 구성 성분인 L-glutamic acid에 메틸알콜을 반응시켜 만든 γ -methyl-L-glutamate(γ -MLG)를 그래프트 공중합하여 항혈전성 의료용재료로서의 성질을 검토하였다. 그래프트된 펩티드의 영향을 검토하기 위하여 폴리우레탄의 우레탄 결합중의 수소에 NaH 치환양을 2종류로 변화시켜 γ -MLG를 그래프트중합시켰다. 혈액적합성은 Lee-White 법으로 혈액응고시간을, microsphere column 법으로 잔유 혈소판수를 측정하였고, 주사전자현미경으로 점착 혈소판의 모폴로지를 관찰하였다.

실 험

시 약

폴리우레탄은 미국 Goodrich사의 제품인 Esthane 5707F1(hard type)을 사용하였으며, L-glutamic acid는 일본 Junsei Chemical Co. 제품(specific rotation 31.5-32.2°, N:9.52%)을 그대로 사용하였다. 기타 시약은 일급 시약을 일반적인 방법으로 탈수정제하여 사용하였다.

그래프트 공중합체의 합성

γ -methyl-L-glutamate와 γ -MLG N-carboxyanhydride (γ -MLG NCA)는 전보³와 같이 합성하였으며 그래프트 공중합체(PU-g-MLG)는 음

이온 개환중합으로 합성하였다.

폴리우레탄을 DMF에 용해시킨 다음 질소기류 하에 0°C이하에서 NaH양을 변화시켜 2종류의 나트륨치환체를 만든 후 여기에 NCA의 중합개시역할을 할 p-bromoaniline을 도입하였다. 각 생성물을 DMF에 녹인 후 γ -MLG NCA를 넣어 상온에서 72시간 반응시켜 그래프트 공중합체(PU-g-MLG)를 합성하였다. 그래프트된 펩티드의 길이는 각 반응점인 아민기의 몰 수에 대한 NCA의 몰비로 조절하였다. Fig. 1과 Table 1에 합성과정과 중합체의 그래프트율을 나타내었다.

함수율 및 기계적성질 측정

측정용 시편은 시료를 tetrahydrofuran(THF)에 10wt%로 녹여 유리판위에 제작한 후 상온에서 감

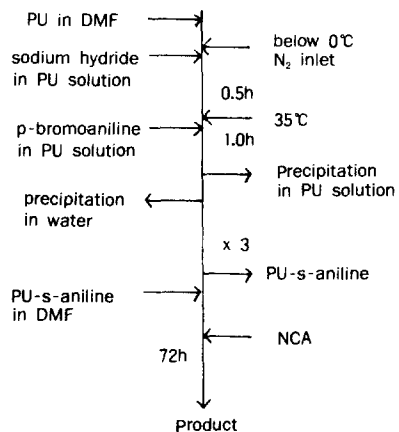


Fig. 1. Preparation of PU-g-MLG.

Table 1. Preparation of Graft Copolymers

Sample	Monomer Feed (g)	Grafting Eff. (%)
PG-I-1	0.46	4
PG-I-2	2.05	32
PG-II-1	0.92	13
PG-II-2	4.10	43

Type I : 0.1042g NaH / 10g PU

Type II : 0.2084g NaH / 10g PU

Reaction time : 72h, Reaction temp. : 35°C.

압건조하여 제조하였다. 합성한 PU-g-MLG 함유율(H_w)은 각 시편을 37°C로 유지시킨 항온조에서 10일간 팽윤시킨 다음 다음식으로 계산하였다.

$$H_w(\%) = (W - W_0) / W_0 \times 100$$

W_0 : 건조상태의 무게, W : 팽윤상태의 무게
인장강도와 신장율은 Universal testing machine (Toyo Baldwin UTM-4-100)을 이용하여 측정하였다.

항혈전성 평가실험 및 임계표면장력측정

항혈전성 평가실험은 microsphere column법과 Lee-White법 및 film depositing법을 이용하여 전보^{4,5}와 같이 실험하였으며, 임계표면장력도 전보⁴와 같은 방법으로 측정하였다. Microsphere column법에서 재료와 혈액과의 접촉면을 균일하게 하고 channel 현상을 방지하기 위해서 Down-Up계를 사용하였다(Fig. 2). Film depositing법은 시료를 $0.5 \times 0.5 \text{cm}^2$ 으로 만든 후 식염수에 팽윤시킨다. 이

팽윤시킨 시료를 즉석에서 채혈한 혈액 3ml에 3분간 담근 후 표면을 식염수로 잘 세척한 다음 1.25% glutaraldehyde로 접촉혈소판을 고정하여 주사전자현미경으로 혈소판의 모폴로지를 관찰하였다.

결 과

중합체의 구조

합성한 그래프트 공중합체의 구조를 FT-IR (Nicolet 5-DX)로 확인한 결과를 Fig. 3과 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 3에서 아민기의 도입양이 증가할 수록 3320cm^{-1} 부근의 N-H 신축진동 band의 강도가 증가하는 것을 알 수 있었으며,⁶ Fig. 4에서 PG-I 형태는 1653cm^{-1} 에서 amide I band가 그리고 1533cm^{-1} 에서 amide II band를 반영하는 random 형태임을 알 수 있었다.⁷ 또한 PG-II 형태는 1654cm^{-1} 에서 amide I band가 1546cm^{-1} 에서 amide II band가 나타나는 것으로 보아 α -helix 구조를 갖

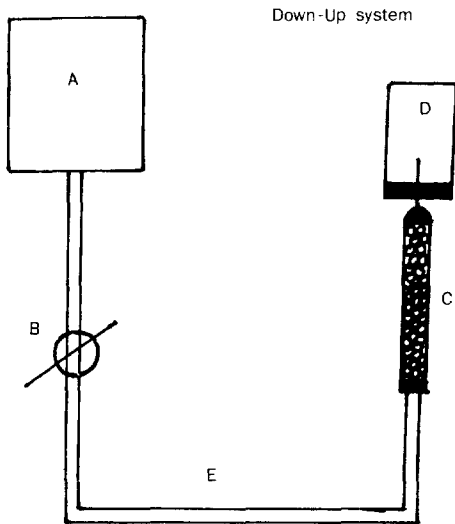


Fig. 2. Apparatus used for the estimation of the degree of interaction between blood platelets and polymer surfaces; A) blood, B) flow controller, C) column, D) EDTA bottle, E) PVC tube.

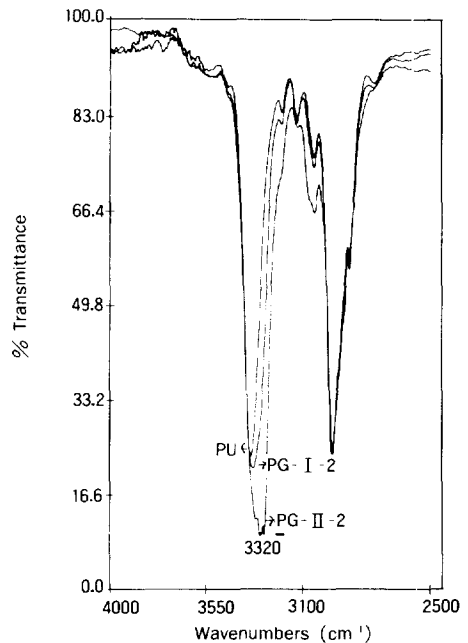


Fig. 3. IR spectra of PU and PU-g-MLG.

는 것을 알 수 있었다.⁸

함수율, 기계적성질 및 임계표면장력

인장강도와 신장율은 PG- I 이 PG- II 보다 우수한 것으로 나타났으며, 전체적으로는 그래프트올

이 증가함에 따라 인장강도는 증가하고 신장율은 감소하고 있다. 함수율은 펩티드양이 증가함에 따라 감소하고 있으며, 임계표면장력은 공중합체 모두 23-27dyn/cm를 갖는다.

항혈전성평가

Microsphere column법에 의한 잔유혈소판수 측정값을 Fig. 5에 나타내었다. Lee-White법에 의한 혈액응고시간 측정값을 Table 4에 나타내었다.

혈소판의 모폴로지관찰

Film depositing법으로 혈소판의 점착기동을 살펴보았다. 점착상태를 비교하기 위해 실험에 사용한 폴리우레탄 및 항혈전성이 좋은 것으로 알려진 실리콘 표면에서의 혈소판 모폴로지 상태를 Fig. 6에서 비교검토 하였다.

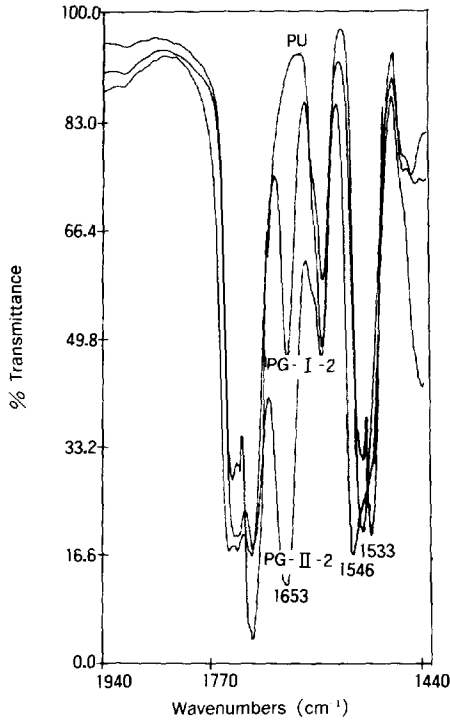


Fig. 4. IR spectra of PU and PU-g-MLG.

Table 2. Mechanical Properties of Polymer Films

Sample	Tensile Strength (Kg/mm ²)	Elongation (%)
PG- I -1	2.36	358
PG- I -2	2.62	259
PG- II -1	1.14	242
PG- II -2	1.86	196

Table 3. Water Content and Critical Surface Tension

Sample	Water Content (%) at 37°C	Critical Surface Tension(dyn/cm)	Graft Effi. (%)
PG- I -1	2.8	26.1	4
PG- I -2	0.7	23.9	32
PG- II -1	0.8	26.6	13
PG- II -2	0.1	23.9	43

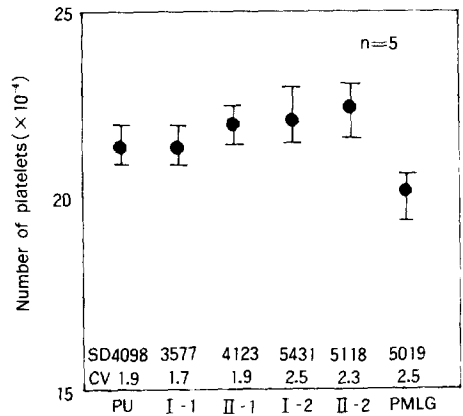


Fig. 5. Number of platelets remaining in the sampling bottle, SD:standard deviation, CV:coef-ficient variance.

Table 4. Clotting Time Ratio and Adhesive Performance of Platelet

Sample	Clotting Time Ratio	Adhesive Performance (%)
Glass	1.00	.
PG- I -1	1.97	8.2
PG- I -2	2.06	6.0
PG- II -1	1.64	6.4
PG- II -2	2.08	3.0
PMLG	1.43	.

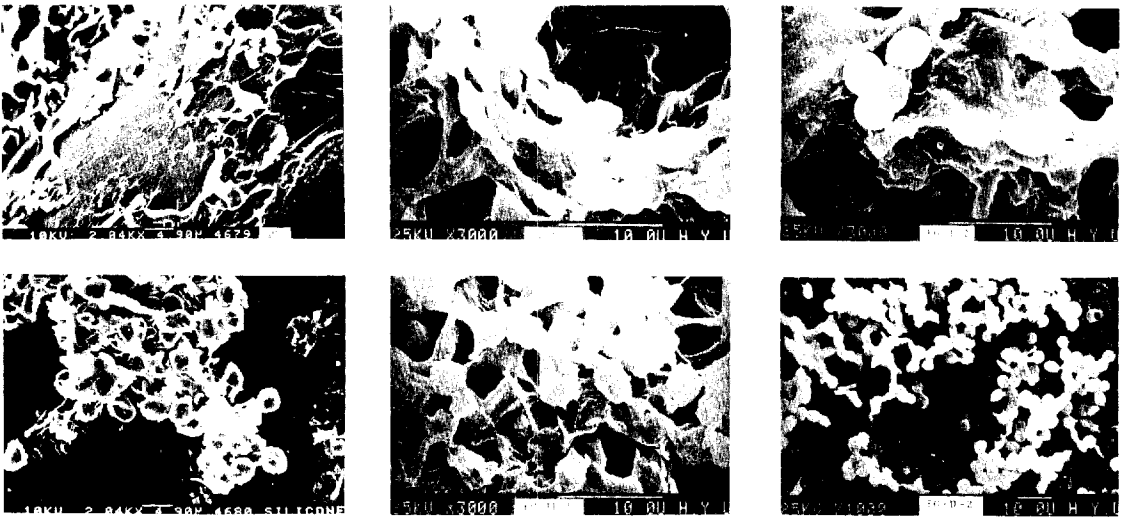


Fig. 6. Appearance of platelets adhered on various polymer surfaces.

고찰

앞의 결과에서 나타난 것처럼 PG-I 이 PG-II 보다 인장강도와 신장율이 우수한 것은 일반적인 그래프트 공중합체에서의 반응점의 수가 적을때 나타나는 일반적인 특성이며, 같은 폴리머에서 그래프트양이 증가할 수록 인장강도는 증가하고 신장율이 감소하는 것은 그래프트체의 길이가 길어짐에 따라 전체 분자량이 증가되어 나타나는 현상이라고 생각되며, 펩티드 고유물성의 영향도 받는다고 생각된다. 함수율의 경우, 진보¹에서 폴리우레탄에 그래프트된 poly(γ -benzyl-L-glutamate)가 모두 α -helix의 콘포메이션일때는 그래프트율이 증가함에 따라 함수율이 거의 직선적으로 감소하고 있다. 본 실험에서는 펩티드 양의 증가에 따라 함수율이 직선적으로 감소하는 경향은 나타나지 않고 있다. 이것은 PG-I의 펩티드가 random 콘포메이션임으로 PG-II의 α -helix보다 수소결합을 할 수 있는 amide bond가 더 많이 존재하기 때문에 나타나는 현상이라고 생각된다. 여기서 펩티드구조가 서로 다르게 형성되는 이유는 펩티드의 양에 관계되는 것으로 생각되지만 그래프트된 펩

티드의 구조에 대해서는 FT-IR 이외에 CD, ORD 등을 이용한 더 자세한 연구가 수행되어야 확실해질 것으로 생각된다.

혈액응고시간(Table 4)과 잔유혈소관 수 측정 결과(Fig. 5)를 비교해보면 반응점이 같은 폴리우레탄을 사용한 중합체에서는 펩티드양이 많은 것이 다소 항혈전성이 우수한 것으로 나타났으며, Fig. 6에 나타난 혈소관의 보물포지사진을 보면 펩티드 양이 많은 PG-I-2와 PG-II-2가 PG-I-1과 PG-II-1 보다 혈전형성이 덜 진행된 것을 알 수 있었으며, PG-I-2와 PG-II-2 모두 거의 원형을 유지하고 있는 혈소관을 관찰할 수 있었으며 이는 혈액응고시간 측정결과 (Table 4)와도 일치하고 있음을 알 수 있다.

결론

본 실험에서는 기계적성질이 우수한 폴리우레탄에 생체단백질 구성성분인 아미노산을 그래프트 공중합하여 혈액적합성을 검토한 결과 다음과 같은 사실을 알았다.

1. 합성한 고분자 재료에서의 혈소관 침착거동

과 평균점착혈소판수를 측정 한결과 PMLG나 PU보다 PG-I과 PG-II의 항혈전성이 다소 우수하며 이 중에서도 펩티드양이 증가함에 따라 다소 우수한 항혈전성을 나타내는 것을 알 수 있었다.

2. 임계표면장력이 20-30dyn/cm에 있는 공중합체가 그렇지 않은 단일중합체보다 다소 우수한 항혈전성을 갖는 것을 알 수 있었다.

본 연구는 과학재단 및 학술진흥재단 연구비 보조의 일부로 이루어졌으므로 이에 감사한다.

참 고 문 헌

1. J. W. Boretos, et al., *J. Biomed. Mater. Res.*, **9**, 327(1975).
2. E. Nylas, et al., *J. Biomed. Mater. Res. Symp.*, **3**, 129(1973).
3. K. Y. Kim, et al., *Polymer(Korea)*, **5**, 459 (1981).
4. K. Y. Kim, et al., *Polymer(Korea)*, **12**, 455 (1988).
5. K. Y. Kim, et al., *Polymer(Korea)*, **9**, 156 (1985).
6. D. L. Pavia, "Introduction to Spectroscopy : A Guide for Students of Organic Chemistry", p. 63, 1979.
7. T. Hayashi, A. G. Walton and J. M. Anderson, *Macromolecules*, **10**, 345(1977).
8. N. Minoura and T. Nakagawa, *J. Appl. Polym. Sci.*, **23**, 2729(1979).